第43卷 第3期
2000年8月

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

Vol.43，No.3
Aug.，2000

文章编号：0454-6296（2000）03-0280-05

中红侧沟茧蜂在粘虫体内的发育及畸形细胞发生

秦启联[1]，龚 和[1]，丁 翠[1]，王方海[2]

（1. 中国科学院动物研究所，农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室，北京 100080；
2. 中山大学昆虫学研究所，生物防治国家重点实验室，广州 510275）

摘要：中红侧沟茧蜂 *Microplitis mediator* 的初产卵因受雌蜂产卵器的机械挤压，在形态上有别于未产出的卵，这种机械挤压激活了蜂卵的胚胎发育。产卵后 6 h，胚带和浆膜层开始分化，20 h 胚胎成形，包裹在单层细胞的浆膜层内。32～34 h，幼蜂孵化，顶部的浆膜层立即分散形成畸形细胞，尾部的浆膜层则逐渐释放细胞。1 龄幼蜂具一对角质的颚，用来消灭同种竞争者。寄生后 108～113 h，1 龄幼蜂蜕皮进入 2 龄。2 龄幼蜂为无头型，尾囊发达。成熟的畸形细胞（受寄生日龄 6 天）表面密布微绒毛，细胞内部高尔基体丰富，内质网发达，细胞核多分支。在高尔基体的两侧和细胞膜附近分布了大量的分泌小池。

关键词：中红侧沟茧蜂；胚胎发育；畸形细胞；超微结构
中图分类号：Q965　　　**文献标识码**：A

中红侧沟茧蜂 *Microplitis mediator* 是一种寄主范围非常广泛的内寄生蜂，它的寄主涉及到鳞翅目夜蛾科和尺蛾科的 40 多种昆虫[1]，其中包括棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、粘虫 *Mythimna separata*、甘蓝夜蛾 *Barathra brassicae* 等农业上的重大害虫。作为一种害虫生物控制因子，在田间，特别是在棉田，中红侧沟茧蜂起了极其重要的作用[2]。同时，中红侧沟茧蜂和粘虫可以作为一对模式昆虫，研究寄生蜂和寄主两者间攻击和防御的关系，以及寄生蜂对寄主生理适应和调节的分子机理。建立一对这样的模式系统，了解寄生蜂在寄主体内发育的基本生物学知识将是必不可少的。王德安等[2]曾就中红侧沟茧蜂的一些生物学特性进行了报道，Arthur 等[1]描述了中红侧沟茧蜂在另一种寄主 *Mamestra configurata* 体内的胚后发育和幼蜂的形态特征，至今没有该种寄生蜂的胚胎发育和在粘虫体内胚后发育的相关报道。

畸形细胞（teratocyte）起源于某些内寄生蜂（茧蜂科、广腹细蜂科、平腹卵蜂科）胚胎的浆膜层，当幼蜂孵化时，浆膜层脱落在寄主的血腔中，解离成单个的细胞，被称作畸形细胞。分散的畸形细胞在寄主血腔中迅速长大，除了染色体倍性增加以外，细胞本身并不分裂[3]。研究表明，畸形细胞在协调寄生蜂和寄主关系的过程中起了极其重要的作用。这些作用包括抑制寄主的免疫反应[4]，调节寄主的生长发育使之有利于幼蜂自身的生长[5]，为幼蜂提供营养来源[6]。

基金项目：国家自然科学基金资助项目（39870099）和农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室资助项目（9912）
收稿日期：1998-09-24；修订日期：1999-10-21

本文观察了中红侧沟茧蜂在粘虫幼虫体内的发育过程，着重描述了胚胎发育的各个阶段，从胚胎发育的时序上给出畸形细胞的发生过程，并对成熟的畸形细胞的超微结构进行了观察。

1　材料和方法

1.1　昆虫的饲养

粘虫饲喂嫩玉米叶，在（26±0.5)℃，16L:8D 的光周期下饲养。交配后的雌蜂收集在放有 10% 蜜糖水棉球的指型管中，25℃ 全暗下保存。以 2 龄末的粘虫作寄主，让雌蜂在每头寄主上产一次卵，在上述同样条件下饲养。

1.2　中红侧沟茧蜂在粘虫体内发育的观察

定时取出受寄生的粘虫，在解剖镜下解剖观察，测量观察对象的大小。蜂卵测量 30 粒，幼蜂测量 10 头，用倒置相差显微镜（LEITZ DMIRB，*Leica*）照相。

1.3　畸形细胞超微结构的观察

在 sf 900（GIBCO 公司）昆虫细胞培养液中解剖受寄生后第 6 天的粘虫，除去幼蜂和粘虫中肠，充分漂洗虫体，使畸形细胞脱离寄主，落入培养液中。用毛细管吸取畸形细胞，在 sf 900 中多次清洗，直到彻底去除寄主血细胞和其它杂物。收集的畸形细胞在 2.5% 的戊二醛中前固定 4 h，0.1 mol/L 的 PBS 冲洗，1% 的锇酸后固定 2 h，乙醇梯度脱水，Epon 812 包埋，超薄切片，醋酸铀和柠檬酸铅染色，透射电镜观察。

将洗净的寄生后第 6 天的畸形细胞层积于预先涂有 0.1% 聚赖氨酸的盖玻片上，4% 的戊二醛 4℃ 下固定 1 天以上，0.1 mol/L 的 PBS 冲洗，乙醇梯度脱水，醋酸异戊酯浸透，临界点干燥，喷金后扫描电镜观察。

2　结果

2.1　胚胎发育

中红侧沟茧蜂产生无卵黄卵，初产卵长（289.9±30.9）μm，在形态上明显有别于卵巢萼内成熟的未产出的卵（图版 Ⅰ：A，B)。蜂卵在经过雌蜂产卵器时受到机械挤压，卵的中部稍稍凸起。这一机械挤压过程激活了蜂卵，使之开始胚胎发育[7]。产卵后 6 h，胚带和浆膜分化（图版 Ⅰ：C)，此时浆膜通过吸收转化寄主血淋巴物质，为胚胎的进一步发育提供养分。产卵 12 h 后，卵的体积迅速增大，在卵的两极，胚胎和卵壳分离，开始形成空隙（图版 Ⅰ：D)。20 h 的胚胎已经成形，包被在单层细胞构成的浆膜层中，胚胎同卵壳之间空隙的范围增大，延展到蜂卵的全周，卵壳的形状随胚胎的形状而改变（图版 Ⅰ：E)，此时卵长（505.6±30.9）μm。产卵后 32～34 h，幼蜂开始孵化。孵化前，胚胎在浆膜围成的囊腔内扭动，随着孵化的临近，扭动越来越剧烈，最终使卵壳和浆膜层从卵的中部断裂，孵化完成（图版 Ⅰ：F，图版 Ⅱ：A)。断裂的上半部浆膜层（包裹胚胎头部的浆膜层）在孵化后，立即分散在寄主的血腔中，形成畸形细胞；而下半部包裹胚胎尾部的浆膜层却暂时聚在卵壳中（图版 Ⅱ：B)，随着细胞的长大和寄主的蠕动，才被挤出残存的卵壳，在寄主的血腔中分散成畸形细胞。

2.2 幼蜂的发育

初孵幼蜂非常活跃，头部骨化，具一对触角和一对运用自如的角质化的颚；尾部膜状透明，1%伊红染色表明，具有强烈的吸收环境物质的能力（图版Ⅰ：G）。种内竞争是单寄生蜂消除同种过寄生矛盾的主要手段[8]。中红侧沟茧蜂是一种单寄生蜂，一旦过寄生发生，先行孵化的幼蜂将在寄主的血腔中搜寻自己的同类，用角质的颚攻击任何遇到的胚胎或幼蜂，将其直接或通过寄主免疫系统间接消灭。

随着生长发育，幼蜂体积增大，行动逐渐迟缓，头部相对变小，从开始的远大于身体直径，变为小于身体直径。角质的颚仍然存在，但已失去攻击同类的作用。尾囊开始形成，内部储存了幼蜂的代谢物（图版Ⅰ：H）。初孵幼蜂体长（601.3±13.1）μm，1龄末期体长（1 947.7±45.0）μm。在产卵后108～113 h，1龄幼蜂开始蜕皮，至幼蜂钻出寄主后，寄主血腔中仍能观察到幼蜂脱下的皮壳。2龄幼蜂为无头型，尾囊发达（图版Ⅰ：I）。在寄生后7～8天，老熟幼蜂钻出寄主，在附近结茧化蛹，此时幼蜂体长5.4 mm，体内由一对绿色（滞育幼蜂为褐色）的丝腺充满。

2.3 畸形细胞的超微结构

幼蜂孵化后，分散在寄主血腔中的畸形细胞迅速长大。细胞的体积和数目随不同的寄主个体和不同的受寄生日龄，差异很大，有别于以往的报道[4,9]（资料将另文发表）。成熟的细胞（受寄生日龄6天）直径为（59.72±13.08）μm，大大超过寄主血细胞，非常容易将两者区分开来。其最显著的超微结构特征是：细胞表面密布微绒毛，细胞内部高尔基体丰富，内质网发达，细胞核多分支，在高尔基体的两侧和细胞膜附近分布了大量的分泌小池（cisternae）（图版Ⅱ：C，D，E）。这些特征都暗示了畸形细胞活跃的蛋白质合成和分泌的功能。

3 讨论

黑头折脉茧蜂 *Cardiochiles nigriceps* 浆膜层的顶部和尾部由多层细胞构成，而侧面只有一层细胞。幼蜂孵化后，浆膜层侧面的细胞退化，畸形细胞来源于顶部和尾部的浆膜层细胞[10]。中红侧沟茧蜂的浆膜层由一层细胞构成，幼蜂孵化时，浆膜层的细胞全部发育成畸形细胞，没有观测到有退化的细胞存在。

初孵中红侧沟茧蜂的角质颚用来攻击同类，保证每头寄主体内只能存活一头幼蜂，这种现象已有报道[8]，然而还没有关于单寄生蜂的幼蜂是通过什么样的途径找到其同类的报道。1龄的中红侧沟茧蜂最明显的形态特征除了具有一对角质化的颚外，还有一对触角（图版Ⅰ：G）。这对触角同角质的颚一样，非常活跃，我们认为，1龄中红侧沟茧蜂的触角在搜索同类的过程中可能起了极其重要的作用。

中红侧沟茧蜂幼蜂的1龄和2龄在形态上存在显著的差别，并且寄主血腔中遗留有1龄幼蜂的壳，而2龄后直至幼蜂钻出寄主，除大小和体色有所不同外，形态上并没有太大差别，寄主血腔中也没有发现幼蜂脱下的壳，但不排除幼蜂有2龄以上虫龄的可能，关于这一点，还要作进一步的研究。

致谢 感谢中国科学院动物研究所于延芬、甘雅玲、齐跃敏在本实验中提供的帮助。

参 考 文 献 (References)

[1] Arther A P, Mason P G. Life history and immature stages of the parasitoid *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae), reared on the bertha armyworm *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae). Can. Entomol., 1986, 118 (5): 487～491

[2] 王德安，南留柱，孙 洗等. 棉铃虫低龄幼虫寄生蜂——侧沟茧蜂生物学研究. 昆虫天敌，1984，6 (4): 211～218

[3] Vinson S B. Development and possible functions of teratocytes in the host-parasite association. J. Invert. Pathol., 1970, 16: 93～101

[4] Tanaka T, Wago H. Ultrastructure and functional maturation of teratocytes of *Apanteles kariyai*. Arch. Insect Biochem. Physiol., 1990, 13: 187～197

[5] Zhang D, Dahlman D L, Gelman D B. Juvenile hormone esterase activity and ecdysteroid titer in *Heliothis virescens* larvae injected with *Microplitis croceipes* teratocytes. Arch. Insect Biochem. Physiol., 1992, 20: 231～242

[6] Okuda T, Kadono-Okuda K. *Perilitus coccinellae* teratocyte polypeptide: Evidence for production of a teratocyte-specific 540 kDa protein. J. Insect Physiol., 1995, 41: 819～825

[7] Quicke D L J. Parasitic Wasps. London: Chapman & Hall Press, 1997. 102～146

[8] Salt G. Competition among insect parasitoids. Symp. Soc. Exp. Biol., 1961, 15: 96～119

[9] Vinson S B, Iwantsch G F. Host regulatory by insect parasitoids. Quart. Rev. Biol., 1980, 55: 143～165

[10] Pennacchio F, Vinson S B, Tremblay E. Morphology and ultrastructure of the serosal cells (teratocytes) in *Cardiochiles nigriceps* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) embryos. Int. J. Insect Morphol & Embryol., 1994, 23: 93～104

Embryogenesis and larval development of *Microplitis mediator* parasitizing *Mythimna separata* and occurrence of teratocytes

QIN Qi-lian[1], GONG He[1], DING Cui[1], WANG Fang-hai[2]

(1. State Key Laboratory of Integrated Management of Insects & Rodents, Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; 2. State Key Laboratory of Biological Control, Institute of Entomology, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The shape of newly laid eggs of the wasps *Microplitis mediator* is different from that of the eggs in the calyx region, due to mechanical press while they pass through the ovipositors, which initiates the development of the embryos. Six hours after oviposition, the embryo attains the germ band stage, and a serosal membrane is observed. Hatching occurs at 32～34 h. Immediately after hatching, the cells from the upper serosal membrane of the embryo disperse to form teratocytes in the haemocoele of the host, while those from the lower part are released gradually. The 1st instar larva has a pair of sclerotized mandibles, which are used as a weapon to fight with its con-species competitors. A caudal sac is well developed after the larva enters its 2nd instar at 108～113 h.

The surface of a mature teratocyte (6 days after parasitization) is covered with numerous microvilli. A

vesiculated endoplasmic reticulum system disperses throughout the cytoplasm in which many Golgi complexes exist too. The nucleus is extensively ramified.

Key words: *Microplitis mediator*; embryogenesis; teratocyte; ultrastructure

图版说明 (Explanation of Plates)

图版Ⅰ (Plate Ⅰ)

A. 雌蜂输卵管萼内成熟的未产出的卵 (Matured egg from ovary of the female wasp);
B. 初产卵，示中部受雌蜂产卵器挤压而凸起 (Newly laid egg, showing convex structure in the middle of the egg formed by the press of ovipositor);
C. 6 h 卵，浆膜和胚带开始形成 (6-hour egg, in which serosal membrane and germ band occur);
D. 12 h 卵 (12-hour egg);
E. 20 h 卵 (20-hour egg);
F. 32 h 正在孵化的卵 (32-hour egg in hatching);
G. 初孵幼蜂，示角质颚，触角和膜质的尾部 (1%伊红染色) (Newly hatched parasitoid larva, showing sclerotized mandibles, antennae and membranous caudal region, in 1% eosin stain);
H. 寄生后 4 天的幼蜂 (1 龄) (Parasitoid larva, 4 day after parasitizing, 1st instar);
I. 寄生后 5 天的幼蜂 (2 龄) (Parasitoid larva, 5 day after parasitizing, 2nd instar)

图版Ⅱ (Plate Ⅱ)

A. 初孵幼蜂，示正在分散的浆膜 (Newly hatched parasitoid larva, showing dispersing serosal membrane);
B. 胚胎下部卵壳内的浆膜细胞，部分细胞正被挤出卵壳 (Serosal cells in lower part of the embryo, part of which are being squeezed out of chorion);
C. 畸形细胞的透射电镜照片 (TEM of the teratocyte);
D. 畸形细胞的扫描电镜照片 (SEM of the teratocyte);
E. D图细胞的部分放大 (Amplification of the cell in Fig. D);

an. 触角 antennae; av. 尾囊 caudal vesicle; ch. 卵壳 chorion; ci. 分泌小池 cisternae; em. 胚胎 embryo; er. 内质网 endoplasmic reticulum; gb. 胚带 germ band; go. 高尔基体 Golgi complex; he. 头部 head; ma. 角质颚 mandible; mg. 中肠 middle gut; n. 细胞核 nucleus; sm. 浆膜层 serosal membrane; ta. 膜质的尾部 tail; te. 畸形细胞 teratocytes